

Encapsulation de micro-algues dans un matériau hybride alginate-silice et production de molécules à haute valeur ajoutée

M.-E. Duprez^a, A. Mirisola^a, J. Desmet^b, J.C. Rooke^b, F. Lox^c, D. Toye^c, B.-L. Su^b, A.-L. Hantson^a, D. Thomas^a

^aFaculté Polytechnique, Université de Mons, 20 place du Parc, 7000 Mons, Belgique (anne-lise.hantson@umons.ac.be)

^bLaboratoire de Chimie des Matériaux Inorganiques, Université de Namur, 61 rue de Bruxelles, 5000 Namur, Belgique

^cLaboratoire de Génie Chimique, Université de Liège, 15 allée du 6 août, 4000 Liège, Belgique

Introduction

Les **micro-algues** sont des micro-organismes photosynthétiques. Leur croissance en milieu aqueux nécessite un apport lumineux ($\lambda = 400$ à 700 nm) ainsi qu'un apport en carbone et en nutriments (N, P, S, *etc.*). Certaines souches, *Dunaliella sp.* par exemple, sont couramment utilisées dans le cadre de la **biosynthèse de caroténoïdes**^[1] (β -carotène, lutéine entre autres). Quelques recherches ont montré qu'il était possible de réaliser l'**extraction *in situ*** des métabolites produits dans un réacteur biphasique (le β -carotène hydrophobe est extrait dans une **phase organique biocompatible** telle que le décane ou le dodécane)^[2,3,4,5].

Le projet **FOTOBIO MAT** (subsidé par le programme Greenomat de la Région Wallonne – Belgique) a pour but de développer un **nouveau type de photobioréacteur dans lequel sont mises en oeuvre les micro-algues encapsulées dans des billes constituées d'un matériau hybride**. Le processus de photosynthèse est ainsi utilisé afin de convertir du CO_2 en composés à haute valeur ajoutée (β -carotène p. ex.). La viabilité des micro-algues encapsulées doit être très importante (min. 6 mois). Idéalement, le β -carotène produit devrait être récupéré par une voie "propre" et ce, quasi en continu.

Caractéristiques des billes, transferts et conditions de mise en fluidisation

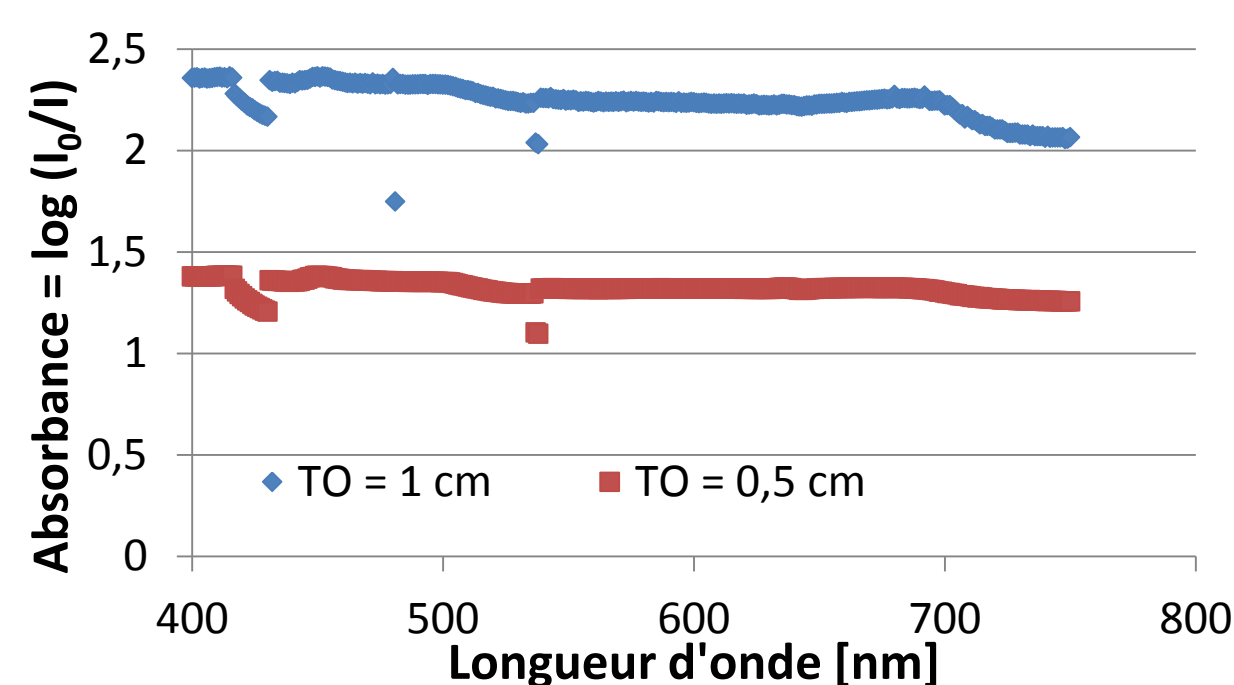
Caractéristiques des billes hybrides

- Souche : *Dunaliella tertiolecta*
- Milieu de culture : Johnson
- Matériau : hybride alginate-silice
- Diamètre des billes : 2 à 3 mm
- Synthèse des billes par coacervation (le mélange prend en masse dans une solution contenant un polycation permettant de stabiliser la structure de la bille)



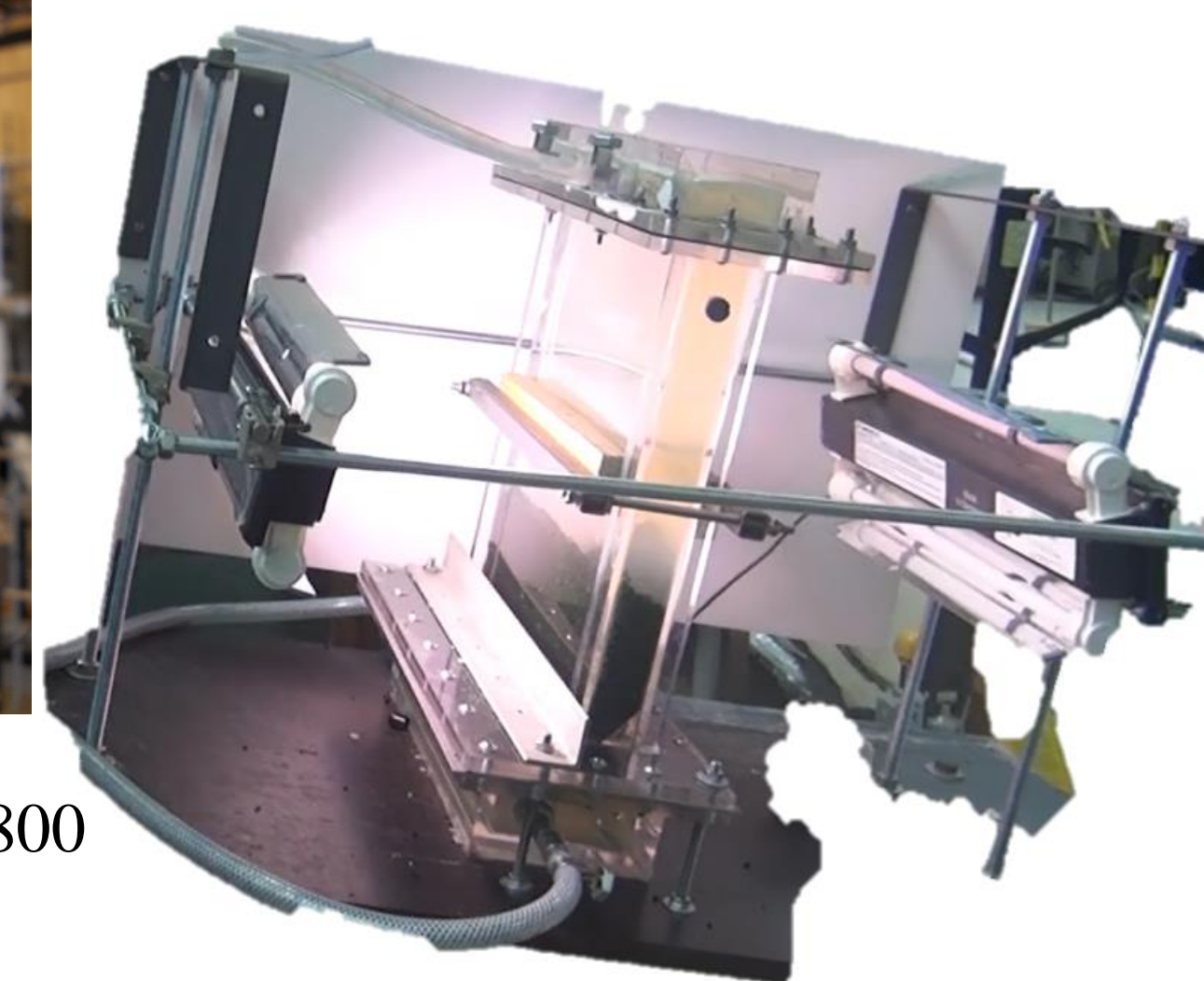
Transfert de lumière

- Relevé du spectre d'absorption à l'aide d'un spectrophotomètre Shimadzu UVmini 1240 à travers une ou plusieurs épaisseurs de billes contenant 0,5% de biomasse (poids sec)
- Moins de 10% de lumière traverse 1 couche de billes (TO = 0,5 cm) ; 2 couches (TO = 1 cm) : moins de 1% → lit fluidisé



Fluidisation

- ~ 40 g de billes
- Colonne de 21,4 mm de diamètre élue de bas en haut par une solution saline
- Minimum de fluidisation : $2,5 \text{ mm.s}^{-1}$
- Fluidisation particulaire ou homogène
- Régime d'écoulement laminaire à intermédiaire
- Coefficient d'expansion ~ 2,5 (Richardson et Zaki)



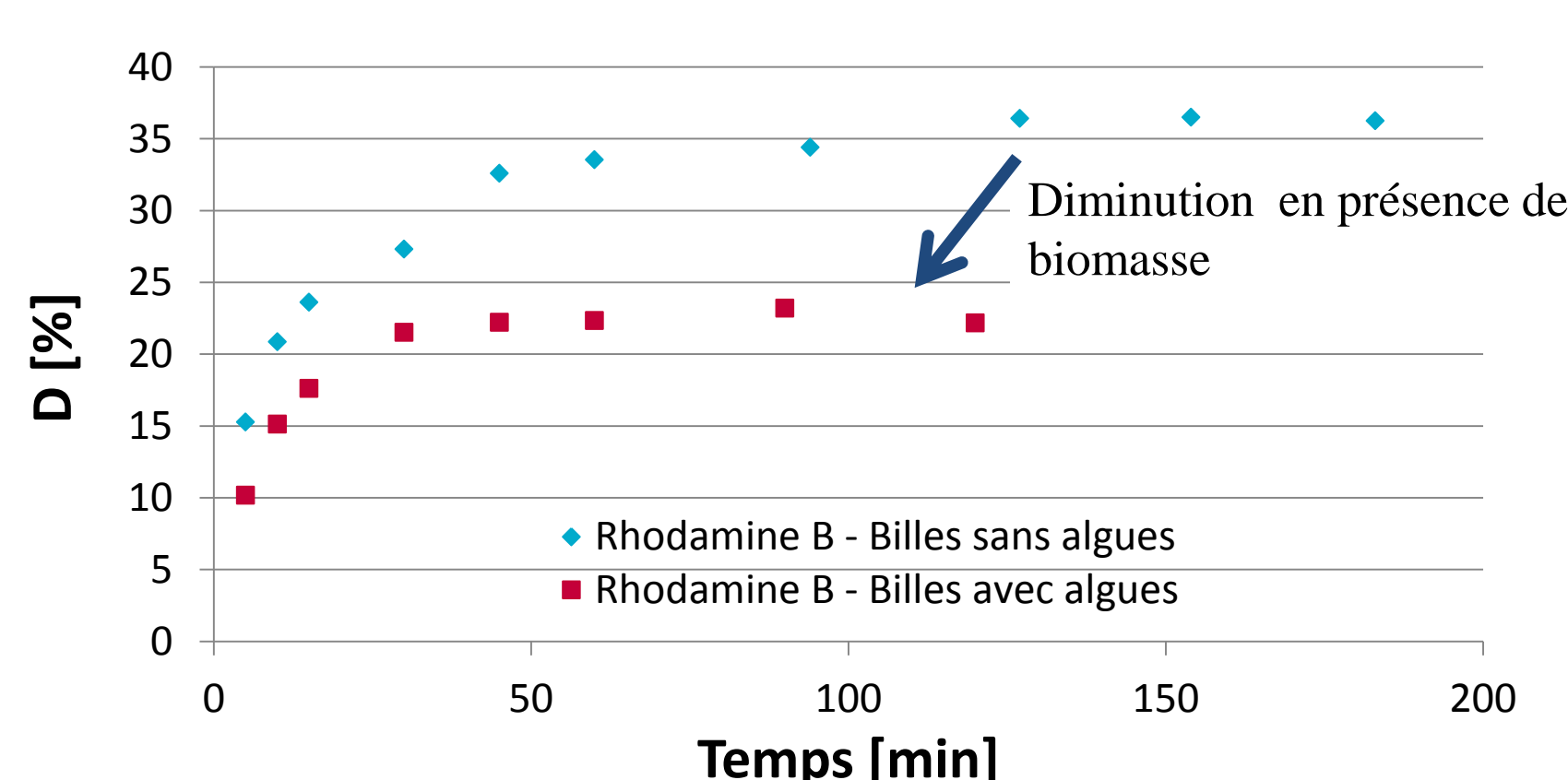
Transferts de gaz et de nutriments

- Suivi en ligne difficile (interférences dues aux ions présents dans le milieu de culture et/ou emploi d'une solution tampon)
- CO_2 dissous : tests en cuvette (LCK388) sur spectrophotomètre DR2800 (Hach Lange) (onéreux à terme)
- O_2 dissous : sonde LDO (*Luminescent Dissolved Oxygen*) branchée sur HQ40d (Hach Lange)
- Nitrates : tests en cuvette (NitraVer) sur spectrophotomètre DR2800 (Hach Lange) et/ou sonde à ions spécifiques (Consort ou Endress Hauser)

Transfert de matière

Diffusion (solution → billes)

- Étude de la diffusion de différents composés (colorant, caroténoïde) au travers de billes plongées dans des solutions contenant lesdits composés par mesure de l'absorbance (décroissante) de la solution à l'aide d'un spectrophotomètre (Shimadzu UVmini 1240)
- Colorant : rhodamine B dans un tampon phosphate 0,05 M (1 g.L^{-1})
- Caroténoïde : β -carotène dans DMSO (1 g.L^{-1})
- Longueurs d'onde suivies : 553 nm (rhodamine B), 470 nm (β -carotène)
- Calcul d'un coefficient caractéristique du transfert de matière : $D = \frac{C(0) - C(t)}{C(0)}$

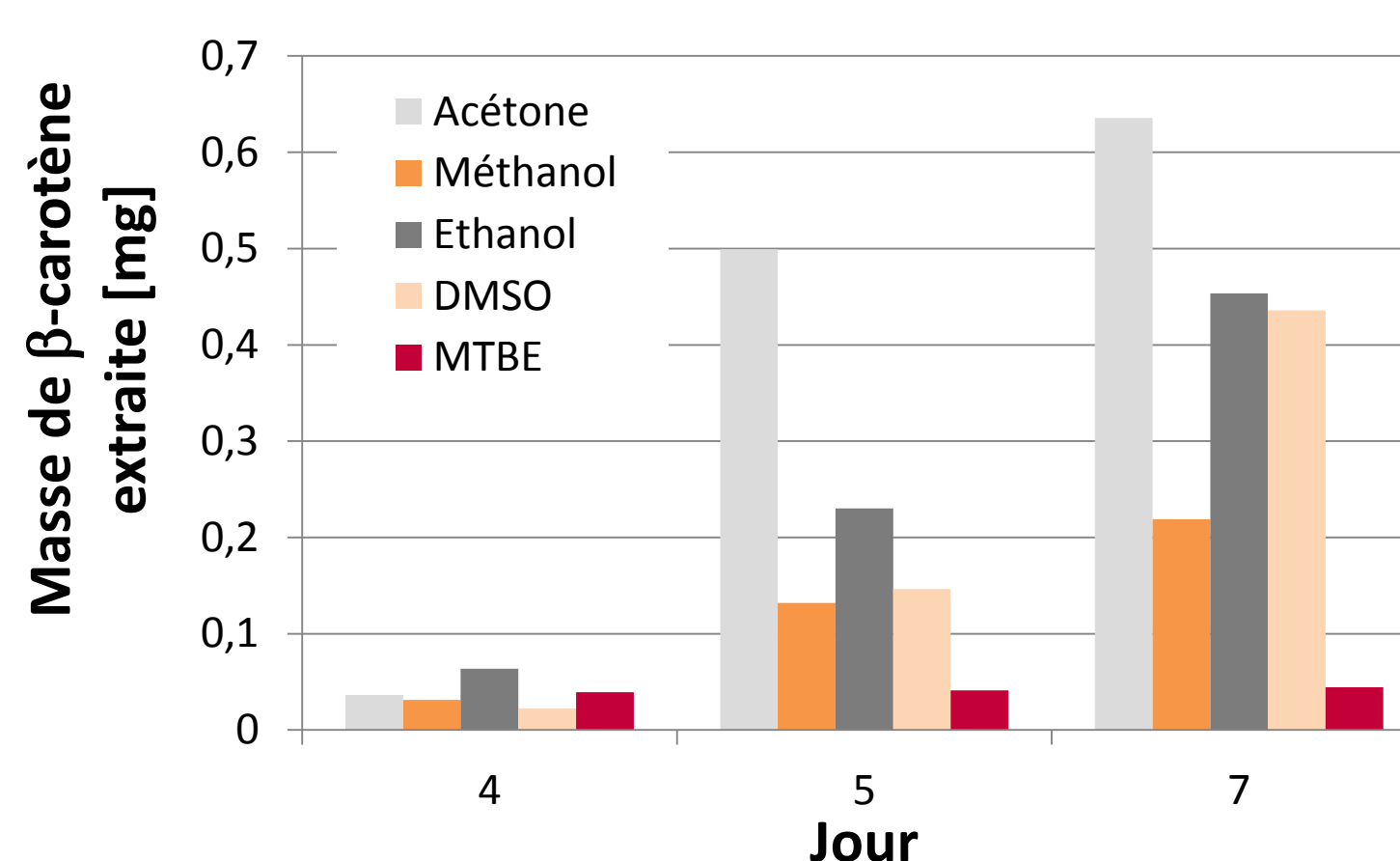


Extraction de β -carotène encapsulé (billes → solution)

- But : identifier un solvant (biocompatible et vert) permettant d'extraire le β -carotène en-dehors des billes
- Principe : du β -carotène de synthèse est encapsulé dans les billes (en l'absence de micro-algues), les billes sont ensuite plongées dans le solvant étudié. Le relargage au cours du temps est suivi par spectrophotométrie
- Mode discontinu : 3 g de billes + 10 mL de solvant, agitation (200 rpm). Le solvant est renouvelé deux fois (jours 4 et 5)
- Mode colonne : 3 g de billes + 4 mL de solvant renouvelé deux fois (15 et 30 minutes)

	Solvant	Rendement d'extraction [%]
Discontinu	Acétone	263
	Méthanol	87
	Ethanol	180
	DMSO	176
	MTBE	18

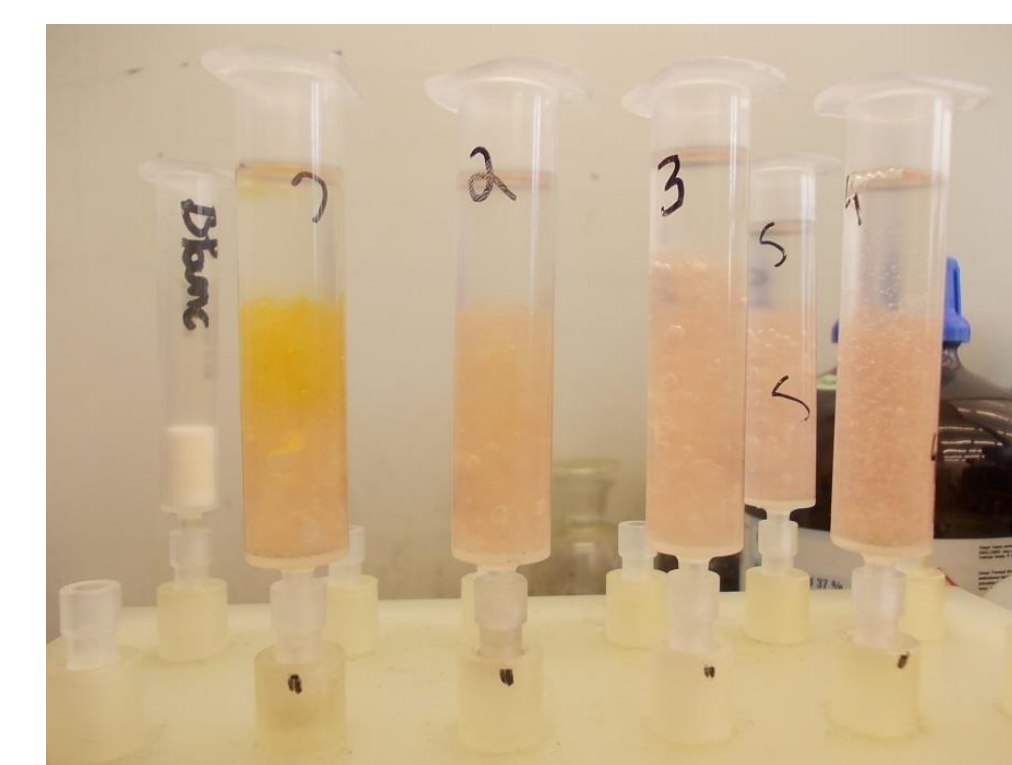
Rdt > 100% → problème de turbidité : relargage d'alginate et/ou de silice (solvants trop agressifs)



- Pas de solvant biocompatible identifié à l'heure actuelle
- Pas de solvant vert identifié à l'heure actuelle
- Test avec billes contenant de la biomasse → extraction de tous les pigments (surtout chlorophylle)

	Solvant	Rendement d'extraction [%]
Colonne	Acétone	28
	Méthanol	8
	Ethanol	12
	DMSO	3

Temps de contact court (3 X 15 minutes) → équilibre pas atteint



Conclusion

FOTOBIO MAT → conception d'un photobioréacteur à biomasse immobilisée dans lequel les micro-algues sont encapsulées dans un matériau hybride alginate-silice sous forme de billes mises en suspension. Les **premiers résultats** sont **prometteurs** : la **biomasse** encapsulée est toujours **en vie après 6 mois**. Le β -carotène produit peut être extrait des micro-algues et de la bille à l'aide d'un solvant. Le meilleur candidat identifié est l'acétone, non biocompatible et non vert. D'autres pistes doivent être explorées : mélange de solvants biocompatibles, verts et extracteurs, extraction sélective des pigments, couplage avec des méthodes d'extraction "mécaniques". La production de β -carotène doit encore être optimisée (transposition des stress connus en biomasse libre vers la biomasse immobilisée). Enfin, des études plus poussées des transferts de lumière, résistance mécanique du matériau, comportement en fluidisation, *etc.* doivent être réalisées.

Références

- Guedes A.C., Amaro H.M., Malcata F.X., 2011, Microalgae as sources of carotenoids, Marine Drugs 9, 625-644.
- León R., Martín M., Vigara J., Vilchez C., Vega J.M., 2003, Microalgae mediated production of β -carotene in aqueous-organic two phase systems, Biomolecular Engineering 20, 177-182.
- Hejazi M.A., Wijffels R.H., 2003, Effect of light intensity on β -carotene production and extraction by *Dunaliella salina* in two-phase bioreactors, Biomolecular Engineering 20, 171-175.
- Kleinegris D.M.M., Janssen M., Brandenburg W.A., Wijffels R.H., 2011, Continuous production of carotenoids from *Dunaliella salina*, Enzyme and Microbial Technology 48, 253-259.
- Kleinegris D.M.M., Janssen M., Brandenburg W.A., Wijffels R.H., 2011, Two-phase systems: potential for *in situ* extraction of microalgal products, Biotechnology Advances 29, 502-507.